

IN THE UNITED STATES PATENT AND TRADEMARK OFFICE

IN RE APPLICATION OF: Hiroyuki YOKOI

GAU:

SERIAL NO: NEW APPLICATION

EXAMINER:

FILED: HEREWITH

FOR: METHOD FOR ASSAYING WHOLE BLOOD

REQUEST FOR PRIORITY

COMMISSIONER FOR PATENTS  
ALEXANDRIA, VIRGINIA 22313

SIR:

☒ Full benefit of the filing date of International Application No. PCT/JP02/02139, filed March 7, 2003, is claimed pursuant to the provisions of 35 U.S.C. §120.

☐ Full benefit of the filing date(s) of U.S. Provisional Application(s) is claimed pursuant to the provisions of 35 U.S.C. §119(e): Application No. Date Filed

☒ Applicants claim any right to priority from any earlier filed applications to which they may be entitled pursuant to the provisions of 35 U.S.C. §119, as noted below.

In the matter of the above-identified application for patent, notice is hereby given that the applicants claim as priority:

COUNTRY  
Japan

APPLICATION NUMBER  
2001-067360

MONTH/DAY/YEAR  
March 9, 2001

Certified copies of the corresponding Convention Application(s)

☒ are submitted herewith

☐ will be submitted prior to payment of the Final Fee

☐ were filed in prior application Serial No. filed

☐ were submitted to the International Bureau in PCT Application Number

Receipt of the certified copies by the International Bureau in a timely manner under PCT Rule 17.1(a) has been acknowledged as evidenced by the attached PCT/IB/304.

☐ (A) Application Serial No.(s) were filed in prior application Serial No. filed ; and

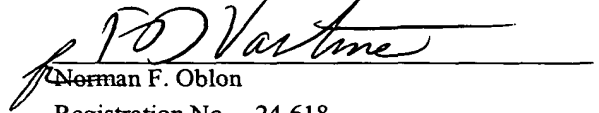
☐ (B) Application Serial No.(s)

☐ are submitted herewith

☐ will be submitted prior to payment of the Final Fee

Respectfully Submitted,

OBLON, SPIVAK, McCLELLAND,  
MAIER & NEUSTADT, P.C.

  
Norman F. Oblon

Registration No. 24,618

Customer Number

22850

Tel. (703) 413-3000  
Fax. (703) 413-2220  
(OSMMN 05/03)

Frederick D. Vastine  
Registration No. 27,013

0p1330

日 本 国 特 許 庁  
JAPAN PATENT OFFICE

別紙添付の書類に記載されている事項は下記の出願書類に記載されている事項と同一であることを証明する。

This is to certify that the annexed is a true copy of the following application as filed with this Office.

出 願 年 月 日            2 0 0 1 年   3 月   9 日  
Date of Application:

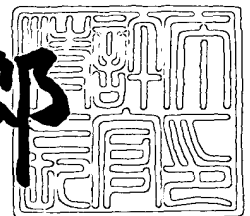
出 願 番 号            特 願 2 0 0 1 - 0 6 7 3 6 0  
Application Number:  
[ST. 10/C] :            [ J P 2 0 0 1 - 0 6 7 3 6 0 ]

出   願   人            三 菱 化 学 メ デ ィ カ ル 株 式 有 限 公 司  
Applicant(s):

2 0 0 3 年   7 月   8 日

特許庁長官  
Commissioner,  
Japan Patent Office

太田信一郎



出証番号   出証特 2 0 0 3 - 3 0 5 3 8 8 8

【書類名】 特許願

【整理番号】 J06581

【提出日】 平成13年 3月 9日

【あて先】 特許庁長官殿

【国際特許分類】 G01N 33/543

【発明の名称】 全血測定法

【請求項の数】 7

【発明者】

【住所又は居所】 茨城県稲敷郡阿見町中央八丁目 5 番 1 号 株式会社ユカ  
・メディアス内

【氏名】 横井 宏行

【特許出願人】

【識別番号】 594152022

【氏名又は名称】 株式会社ユカ・メディアス

【代理人】

【識別番号】 100089244

【弁理士】

【氏名又は名称】 遠山 勉

【選任した代理人】

【識別番号】 100090516

【弁理士】

【氏名又は名称】 松倉 秀実

【選任した代理人】

【識別番号】 100100549

【弁理士】

【氏名又は名称】 川口 嘉之

【連絡先】 0 3 - 3 6 6 9 - 6 5 7 1

## 【手数料の表示】

【予納台帳番号】 012092

【納付金額】 21,000円

## 【提出物件の目録】

【物件名】 明細書 1

【物件名】 要約書 1

【プルーフの要否】 要

【書類名】 明細書

【発明の名称】 全血測定法

【特許請求の範囲】

【請求項 1】 全血を含む試料、磁性体に担持され当該試料中に含まれる被測定成分に特異的に結合する第 1 の物質、および前記被測定成分に特異的に結合する第 2 の物質を、試料中の血球を破壊せずに反応させ、形成された反応生成物を測定することを特徴とする免疫測定法。

【請求項 2】 非溶血性の界面活性剤の存在下で反応を行うことを特徴とする請求項 1 記載の免疫測定法。

【請求項 3】 非溶血性の界面活性剤が、ポリオキシエチレンソルビタン系界面活性剤およびスルホベタイン系界面活性剤から選ばれたものであることを特徴とする請求項 1 又は 2 に記載の免疫測定法。

【請求項 4】 全血を含む試料、および被測定成分に特異的に結合する第 1 の物質を反応させて第 1 の反応生成物を形成し、ついでこれに前記被測定成分に特異的に結合する第 2 の物質を反応させて第 2 の反応生成物を形成させることを特徴とする請求項 1 ～ 3 のいずれかに記載の免疫測定法。

【請求項 5】 第 2 の物質が標識化されていることを特徴とする請求項 1 ～ 4 のいずれかに記載の免疫測定法。

【請求項 6】 前記被測定成分に特異的に結合する第 1 及び第 2 の物質が抗原又は抗体である請求項 1 ～ 5 のいずれかに記載の免疫測定法。

【請求項 7】 少なくとも磁性体に担持された被測定成分に特異的に結合する第 1 の物質および被測定成分に結合する第 2 の物質を含むことを特徴とする、請求項 1 ～ 6 のいずれかに記載の免疫測定法を行うための試薬キット。

【発明の詳細な説明】

【0 0 0 1】

【発明の属する技術分野】

本発明は、全血を試料とし、血漿中に含まれる特定成分を分析するための方法に関するものである。

【0 0 0 2】

**【従来の技術】**

血液中の特定成分、例えば蛋白質、内分泌物質、抗原、抗体を測定することは臨床上きわめて重要である。一般的に血液試料としては、血漿または血清を用いることが多いが、このとき溶血を避けるため極力速やかに全血を血清・血漿分離するのが通常である。その理由は、血球成分が存在すると、免疫検査領域の場合、溶血における光学系への影響や、血球内部成分による免疫反応の阻害、血球細胞膜成分による免疫固相担体の凝集、付着等の妨害が生ずるからである。したがって、通常、遠心分離によって全血から血球を除去した血漿又は血清が分析試料として用いられていた。

**【0003】**

しかし、血球を除去するためには専用の装置が必要であり、また手間がかかるので、そのような設備を持たない開業医や、時間的余裕のない緊急検査では、全血をそのまま測定試料として用いることが望ましい。

**【0004】**

以上の要求を満たすため、血清・血漿分離を行うことなく、全血そのものを測定する種々の方法が既に提案されている。そのうち、免疫測定法について以下に示すと、まず、血球を故意かつ強制的に溶血させて測定する場合ではホモジニアスアッセイのラテックス凝集法を用いた方法（特開平10-48214）が、また血球を溶血させずに測定する方法では、ホモジニアスアッセイのラテックス散乱光を用いた方法（Clinical Chemistry Vol.43 page1764-1770 1997）や、ヘテロジニアスアッセイの固相化抗体にプラスチックキュベットを用いた方法（特開平6-265554）、及びポリスチレンビーズや磁性粒子を固相化抗体に用いた方法（特表2000-508075、W096/04558）が報告されている。

**【0005】**

一般的に免疫測定法で極微物質が測定対象の場合、原理的に高感度測定な可能なB/F分離を伴うヘテロジニアスアッセイが好んで用いられ、B/F分離の簡便性から磁性粒子を固相化抗体に用いた測定系が多用される。ところが、固相化抗体に用いる不溶化担体が直径ミリメートル単位のビーズやプラスチックプレートのようにそれ自体同士が凝集できない場合は問題ないが、磁性粒子のように微粒子を

用いる測定系では、全血そのままを測定する場合、溶血が起こるとヘモグロビン等の血球細胞内部物質が磁性粒子の凝集を引き起こし、測定系に大きな影響を引き起こすことがある。また、溶血していない新鮮な全血を測定試料として用いても、血球細胞膜表面物質によって磁性粒子が反応槽やピペットチップ内壁に付着してしまい、正確に測定できないという弊害が生じる場合があった。

#### 【0006】

##### 【発明が解決しようとする課題】

この発明は、上述の事項に鑑み、全血をそのまま検体として使用し、その全血検体試料中の測定対象物質を迅速、かつ好ましくは正確に測定する手段を提供することを課題とする。

#### 【0007】

##### 【課題を解決するための手段】

本発明者らは、ヘテロジニアス免疫測定法において、血球を破壊させずに免疫反応を行うことにより、遠心分離等で血清・血漿分離しなくても簡便・短時間で測定できることを見いだした。

すなわち本発明は、全血を含む試料、磁性体に担持され当該試料中に含まれる被測定成分に特異的に結合する第1の物質、および前記被測定成分に特異的に結合する第2の物質を、試料中の血球を破壊せずに反応させ、形成された反応生成物を測定することを特徴とする免疫測定法である。

また本発明は、少なくとも磁性体に担持された被測定成分に特異的に結合する第1の物質および被測定成分に結合する第2の物質を含むことを特徴とする上記免疫測定法を行うための試薬キットである。

#### 【0008】

本発明の方法は、好ましくは非溶血性の界面活性剤の存在下で反応を行う。界面活性剤を反応系に添加することにより、測定中の溶血を防ぎ、かつ、磁性粒子が反応槽やピペットチップ内壁への付着を防止することによって、血球成分及び血球によって引き起こされる影響を回避することができる。

#### 【0009】

前記界面活性剤としては、ポリオキシエチレンソルビタン系界面活性剤および

スルホベタイン系界面活性剤から選ばれる界面活性剤が挙げられる。

本発明において、前記被測定成分に特異的に結合する第1及び第2の物質としては、抗原又は抗体が挙げられる。

#### 【0010】

##### 【発明の実施の形態】

以下、本発明につき詳細に説明する。

本発明の方法は、全血を含む試料中の被測定成分を、それに特異的に反応する物質を用いて測定する方法である。

被測定成分としては、特に限定されず、それと特異的に反応する物質とともに反応生成物を形成するものであればよい。例えば、被測定物質とこれに特異的に反応する物質の組み合わせとしては、抗原と抗体、抗体と抗原、糖鎖とレクチン等が挙げられる。このように本発明において「特異的に反応する」とは、生化学的に特異的に結合することを意味する。

#### 【0011】

試料は、被測定成分を含むか又は含む可能性のあるものであればよく、本発明では全血を含む試料であれば特に制限はされない。

#### 【0012】

一般的に免疫測定系において、全血を被検試料として用いると、血球成分が測定値に種々の影響を与える場合がある。特に、B/F分離を行うヘテロジニアス測定においては、不溶化担体が磁性粒子のように微粒子の場合は、往々にして血球成分によって非特異凝集や反応槽、ピペットチップ内壁に付着してしまい正確に測定できない。

#### 【0013】

一方、本発明は、血球を破壊せずに行うヘテロジニアスな免疫測定法である。血球を破壊させない方法としては、生理食塩水等の等張液、又は非溶血性の界面活性剤を試料又は反応系に加える等の方法が挙げられる。また、細胞核の破壊を防ぐためにはマグネシウムイオンを試料又は反応系に加える等の方法が挙げられる。本発明においては、非溶血性の界面活性剤を加えることが好ましい。

#### 【0014】



全血が溶血すると、血球内部のヘモグロビンや細胞核由来物質等の阻害物質が大量に反応系に流出し、免疫反応の低下や磁性粒子の非特異凝集を起こすので、できるだけ溶血させない工夫が必要である。また、全血中の血球成分は時間が経つと沈降してくるので、測定前に全血を良く攪拌して、血球成分を均一にしておく必要があり、さらに一般的に免疫測定では検体と試薬を良く攪拌する工程が必須である。このような攪拌工程においては、血球に強い力が加わり、血球が破裂して溶血しやすくなる。このとき、本発明者らは溶血させない比較的弱い界面活性剤を適切に用いると、赤血球が攪拌の物理的力がかかっても溶血し辛くなり、磁性粒子の非特異凝集や反応槽、ピペットチップ内壁への付着が軽減されることを見出した。また、多少溶血が起こった場合でも、これらの界面活性剤によって阻害を低減することができた。

#### 【0015】

本発明において使用する界面活性剤は非溶血性のものである。すなわち、血液と混合した際に溶血を引き起こさないか、又は測定に影響を与えない程度に溶血が少ないものであって、被測定成分とそれに特異的に結合する物質との反応を実質的に阻害しないものであれば、特に制限はされない。本発明においては、特にポリオキシエチレンソルビタン系またはスルホベタイン系の界面活性剤が好適に使用される。

#### 【0016】

ポリオキシエチレンソルビタン系の界面活性剤としては、ポリオキシエチレンソルビタンモノラウレート、ポリオキシエチレンソルビタンモノオレート等が挙げられ、特に溶血作用が弱いポリオキシエチレンソルビタンモノオレートを用いることが望ましい。

#### 【0017】

スルホベタイン系の界面活性剤としては、ジメチルエチルアンモニウムプロパンスルフォネート、3-(1-ピリジノ)-1-プロパンスルフォネート、ジメチルベンジルアンモニウムプロパンスルフォネート、n-オクチル-N, N-ジメチル-3-アンモニオ-1-プロパンスルフォネート、n-デシル-N, N-ジメチル-3-アンモニオ-1-プロパンスルフォネート、n-ドデシル-N,

N-ジメチル-3-アンモニオ-1-プロパンスルフォネート、n-テトラデシル-N, N-ジメチル-3-アンモニオ-1-プロパンスルフォネート、n-ヘキサデシル-N, N-ジメチル-3-アンモニオ-1-プロパンスルフォネート等が挙げられ、特に溶血作用が弱いジメチルエチルアンモニウムプロパンスルフォネート、3-(1-ピリジノ)-1-プロパンスルフォネート、ジメチルベンジルアンモニウムプロパンスルフォネート、n-オクチル-N, N-ジメチル-3-アンモニオ-1-プロパンスルフォネートを用いることが望ましい。

#### 【0018】

界面活性剤は、1種を単独で用いてもよく、複数種の混合物として用いてもよい。

これらの、界面活性剤は、試料と、試料中に含まれる被測定成分と特異的に結合する第1及び第2の物質との反応が行われる前に、前処理として全血処理剤として全血と混ぜてもよいが、上記の界面活性剤は免疫反応を実質的に阻害しないので、例えば固相化固体溶液に予め溶解しておき、全血を直接、固相化抗体と反応させても良い。なお、かかる界面活性剤は、溶血を実質的に引き起こさず、磁性粒子の非特異的凝集や反応槽、ピペットチップ内壁への付着を防ぎ、かつ、被測定成分とそれに特異的に結合する物質との反応を実質的に阻害しない濃度であれば特に制限されないが、具体的には、試料全体に対して0.01～10%の濃度となるように存在させることが好ましく、より好ましくは0.1～5%である。

#### 【0019】

磁性体に担持された被測定成分に特異的に結合する第1の物質は、通常、免疫測定に用いられている磁性体及び磁性体へのタンパク質の担持法にしたがって、調製することができる。

#### 【0020】

試料と、磁性体に担持された第1の物質、及び第2の物質との反応は、通常、全血を含む試料、および磁性体に担持された第1の物質を反応させて第1の反応生成物を形成する工程と、第1の反応生成物に第2の物質を反応させて第2の反応生成物を形成させる工程により行われる。

**【0021】**

第2の物質は、標識化されていることが好ましい。標識としては、例えば、酵素、放射性同位元素、発色物質、蛍光物質、発光物質、各種着色粒子を挙げることができるが、高感度測定法で用いられている酵素化学発光法(CLEIA)で良く用いられている酵素としてはアルカリホスファターゼ、ペルオキシダーゼ、ガラクトシダーゼ、グルコオキシダーゼ等が挙げられる。標識酵素の基質としては、各酵素に対応したものをを用いるが、酵素化学発光法(CLEIA)においては、アルカリホスファターゼに対してはアダマンチルメトキシフェニルホスホリルジオキシセタン(AMPPD)を用い、ペルオキシダーゼに対してはルミノール／過酸化物を用い、ガラクトシダーゼに対してはアダマンチルメトキシフェニルβ-D-ガラクトシルジオキシセタン(AMPGD)を用いることができる。

**【0022】**

反応生成物を形成させる反応条件は、被測定成分とそれと特異的に結合する物質の組み合わせに応じて適宜選択される。例えば、抗体と抗原との反応および反応生成物の量の測定は、抗体または抗原を、それに対する抗体または抗原の結合した固相試薬および標識試薬と混合して免疫複合体を形成させ、洗浄によって免疫複合体から未反応の抗体または抗原および標識試薬を除去し(B/F分離)、免疫複合体の形成により固相に結合した標識試薬の標識の量を測定することによって行うことができる。

**【0023】**

具体的には例えば、上記のように処理された全血検体と第1の物質を担持させた磁性粒子を反応槽に分注、攪拌後、所定の温度で所定時間抗原抗体反応を行わせ、B/F分離で未反応物質を含む試料を反応槽から排除する。B/F分離は、永久磁石、電磁石等で磁場を与えることによって簡単に行うことができる。次に、第2の物質を反応槽に分注し、所定の温度・時間で反応させ、再びB/F分離で未反応な標識抗体を洗い流す。

**【0024】**

続いて、固相に残った標識の量を測定する。標識の量の測定は、公知の酵素化学発光法、又は酵素免疫法におけるのと同様にして行うことができる。例えば、

発光量は、光電子倍增管（PMT）等により測定することができる。

#### 【0025】

本発明において、「反応生成物を測定する」とは、反応生成物自体の量を直接測定するだけでなく、反応生成物の量に定量的に関連した物質の量を測定することも包含する。このようにして測定された反応生成物の量から検体中の被測定成分の量を算出することができる。また、本発明においては、反応生成物の測定には、反応生成物の有無を判定する定性的な測定も包含される。

#### 【0026】

全血測定の場合は、測定後ヘマトクリット補正が必要であるが、殆どの検体の場合ヘマトクリット値はほぼ40～50%になる。また測定項目が感染症のように陽性か陰性を判定する定性測定の場合、ヘマトクリット補正はさほど重要ではないので、検体毎にヘマトクリット測定しなくても実用上問題ない。もちろん、ヘマトクリット値が得られれば、ヘマトクリット補正  $\left[ \text{測定結果} \times \frac{100}{100 - \text{ヘマトクリット値}(\%) } \right]$  を行えば精度の高い結果を得ることができる。

#### 【0027】

本発明の免疫測定法を行うための試薬キットは、通常の免疫反応を利用したキットと同様の構成によって提供される。すなわち、本発明の試薬キットは、少なくとも上記磁性体に担持された被測定成分に特異的に結合する第1の物質及び被測定成分に特異的に結合する第2の物質を含む。さらに、界面活性剤、例えば上記ポリオキシエチレンソルビタン系界面活性剤及びスルホベタイン系界面活性剤から選ばれる界面活性剤を含むものが好ましく、さらに任意の要素として、試料希釈液、洗浄液等を含んでいてもよい。

#### 【0028】

##### 【実施例】

以下、実施例により本発明をさらに具体的に説明するが、本発明はこれに限定されるものではない。

#### 【0029】

実施例1 HBsAg（B型肝炎ウイルス表面抗原）用酵素化学発光免疫試薬の調製

## 【0030】

## ①磁性粒子の調製

抗HBsAgポリクローナル抗体を磁性粒子( $0.3\mu\text{m}$ )に、50mMリン酸緩衝液(pH4.0)中で物理吸着させた後、0.2% BSAを含むトリス緩衝液(0.1M pH8.0)で37℃において1日処理し、抗HBsAg抗体結合粒子を作製した。作製した磁性粒子は、0.1Mトリス緩衝液(pH8.0)に100~200 $\mu\text{g/ml}$ の濃度になるように懸濁して用いた。

## 【0031】

## ②標識抗体の作製

抗HBsAgモノクローナル抗体をマレイミド法でウシアルカリホスファターゼ(ALP)と結合させ、ALP標識抗HBsAg抗体を作製した。作製した標識抗体は0.1Mトリス緩衝液(pH8.0)に0.2~0.5 $\mu\text{g/ml}$ の濃度になるように懸濁して用いた。

## 【0032】

## ③B/F洗浄液の作製

1% Tween20および0.15M NaClを含む0.1Mトリス緩衝液(pH8.0)を調製した。

## 【0033】

## ④発光基質

発光基質は25mM AMPPD溶液(トロピックス社)を用いた。

## 【0034】

## 実施例2 抗HBsAg抗体結合粒子及び標識抗体の検定

まず、実施例1で作製した試薬の性能を確認した。性能の評価は、検体として、全血ではなくHBsAg陽性コントロール血清と陰性コントロール血清を用いた。アッセイ方法は、検体60 $\mu\text{l}$ に磁性粒子150 $\mu\text{l}$ を加え攪拌し、42℃で10分間インキュベート後、磁石によって磁性粒子を回収し、B/F洗浄液でよく洗浄した。次に洗浄した磁性粒子に標識抗体150 $\mu\text{l}$ を加えて攪拌し、再び42℃ 10分間インキュベート後、磁石によって磁性粒子を回収し、B/F洗浄液でよく洗浄した。さらに洗浄した磁性粒子にAMPPD溶液200 $\mu\text{l}$ を加えてよく混合し、42℃で5分間インキュベート後、光電子倍增管(PMT)で発光量を測定した。

## 【0035】

上記の測定を12日間に渡って繰り返し、日間再現性を検討したところ、表1のように良好な結果を得た。

【0036】

【表1】

表1

	発光強度	
陰性コントロール血清	平均	257
	標準偏差	17
	CV(%)	6.5%
陽性コントロール血清	平均	43035
	標準偏差	1404
	CV(%)	3.1%

【0037】

#### 実施例3 全血処理液の検討

全血処理液は、1% BSAおよび0.15M NaClを含む0.1M トリス緩衝液(pH8.0)に種々の界面活性剤を溶解することにより調製した。

【0038】

EDTA採血管で採血後、3日間4℃で保管しておいた全血検体とその全血検体から遠心分離して得られた血漿に、それぞれHBsAgを1U/mlになるように添加し、血漿検体の発光強度を100%として、HBsAgの回収試験を行った。全血検体は4℃保管中に血球成分が沈降分離しており、血漿部分に僅かに溶血していることが認められた。溶血量は他法で測定して全赤血球の約5%であった。

【0039】

次に、全血検体と全血処理液を9:1で混合し、血漿検体は精製水を9:1で混合し直ちにHBsAgの測定を行った。また、全血検体を、全血処理液の代わりに界面活性剤を添加しない蒸留水と混合して、同様にしてHBsAgの測定を行った。

【0040】

また、溶血の有無や反応槽（ポリプロピレン製）における磁性粒子の付着性や反応中の磁性粒子の凝集度は目視で確認した。結果を表2に示す。

【0041】

【表 2】

表 2

	検体	全血混合時の界面活性剤濃度	溶血有無	反応槽壁への磁性粒子の付着	磁性粒子の凝集	発光強度	添加回収率
TritonX-100	全血	1%	有	無	有	5130	42%
Tween20	全血	1%	無	無	無	10620	87%
Tween80	全血	1%	無	無	無	10260	85%
3-(1-ヒドリジノ)-1-プロパンスルフォネート	全血	2%	無	微量	無	10830	88%
Brij78	全血	1%	有	無	有	5820	48%
サポニン	全血	1%	有	多	有	9460	77%
SDS	全血	1%	有	無	有	2450	20%
CHAPS	全血	1%	有	無	有	8020	66%
界面活性剤無し	全血	0%	無	多	多	11690	96%
蒸留水	血漿	0%	無	無	無	12240	100%

TritonX-100: ポリオキシエチレンオクチルフェニルエーテル

Tween20: ポリオキシエチレンソルビタンモノラウレート

Tween80: ポリオキシエチレンソルビタンモノオレイト

Brij78: ポリオキシエチレンステアシルエーテル

SDS: ドデシル硫酸ナトリウム

CHAPS: 3-[(3-トリメチルホピル)ジメチルアンモニオ]-1-プロパンスルフォネート

## 【0042】

表2のように、全血をサンプルとした場合、Tween20, Tween80, 3-(1-ヒドリジノ)-1-プロパンスルフォネート、界面活性剤無し(1% BSAおよび0.15M NaClを含む0.1M トリス緩衝液(pH8.0))が、回収率85%以上と良好であった。界面活性剤無しは回収率が96%と最も良好であったが、反応槽内壁への磁性粒子の付着が認められたため、B/F洗浄が良好に行われていなかった可能性がある。以後の検討にはTween80, 3-(1-ヒドリジノ)-1-プロパンスルフォネートを用いることにした。

## 【0043】

## 実施例4 新鮮全血検体を用いた検討

緊急検査では採血後すみやかに測定することが望ましい。また全血中の赤血球は保存中に徐々に溶血し、測定系に影響を与える可能性がある。採血直後の新鮮血で、実施例3と同様にして、HBsAgの添加回収試験を行った。全血処理液は、3-(1-ヒドリジノ)-1-プロパンスルフォネート、Tween80、及びこれ

らの混合物を用いて調製した。結果を表3に示す。

【0044】

【表3】

表3

	検体	全血混合時の界面活性剤濃度%	溶血有無	反応槽壁への磁性粒子の付着	磁性粒子の凝集	発光強度	添加回収率
3-(1-ヒロリジン)-1-フッ化リン アルフォート	全血	2%	無	無	有	11370	86%
Tween80	全血	1%	無	無	無	13460	102%
3-(1-ヒロリジン)-1-フッ化リン アルフォート + Tween80	全血	2% 1%	無	無	無	12910	98%
蒸留水	血漿	0%	無	無	無	13180	100%

【0045】

その結果、新鮮全血を用いた場合、回収率は86%~102%と良好であった。

【0046】

【発明の効果】

本発明の方法によれば、全血をそのまま検体として使用して、血液中の測定対象物質を、迅速に測定することができる。



【書類名】 要約書

【要約】

【課題】 血中に含まれる被測定成分を、全血そのままを用いて測定する方法を提供する。

【解決手段】 全血を含む試料、磁性体に担持され当該試料中に含まれる被測定成分に特異的に結合する第 1 の物質、および前記被測定成分に特異的に結合する第 2 の物質を、試料中の血球を破壊せずに反応させ、形成された反応生成物を測定する。

【選択図】 なし

特願 2 0 0 1 - 0 6 7 3 6 0

出 願 人 履 歴 情 報

識別番号 [ 5 9 4 1 5 2 0 2 2 ]

1. 変更年月日 1 9 9 5 年 1 2 月 2 5 日  
[変更理由] 住所変更  
住 所 茨城県稲敷郡阿見町中央八丁目 5 番 1 号  
氏 名 株式会社ユカ・メディアス
2. 変更年月日 2 0 0 1 年 1 0 月 1 8 日  
[変更理由] 名称変更  
住 所 茨城県稲敷郡阿見町中央八丁目 5 番 1 号  
氏 名 三菱化学メディカル株式会社